

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
渡 邊 久	主 査 教 授 樋 口 和 秀 副 査 教 授 瀧 内 比 呂 也 副 査 教 授 芝 山 雄 老 副 査 教 授 大 槻 勝 紀
主論文題名 An Investigation of the Expression of Epigenetic-Related Genes in Gastric Cancer (胃癌におけるエピジェネティクス関連遺伝子の発現に関する検討)	
学位論文内容の要旨	
《背景および研究目的》 胃癌の発育・進展には多段階的な遺伝子異常の蓄積が深く関与しており、癌前遺伝子の点突然変異・増幅、癌抑制遺伝子の欠失・変異などの DNA 塩基配列の変化を伴うジェネティックな異常が重要であることが解明されてきた。一方、DNA メチル化に代表される DNA の塩基配列の変化を伴わず、遺伝子機能を不活性化する高次の遺伝子情報制御機構であるエピジェネティクスの異常も癌に関与していることが報告されるようになってきた。また、DNA メチル化が起こった際の遺伝子不活性化機構は、メチル化 DNA 結合蛋白がメチル化 DNA に結合し、転写を負に調節すると同時に、同蛋白がヒストン脱アセチル化酵素をリクルートし、クロマチンを凝集させることでも転写が抑制されていることがわかってきた。しかし、この抑制機構と癌との相互作用について未だ知見に乏しい。したがって、その抑制機構に関連する遺伝子発現の検討は、胃癌におけるエピジェネティックな異常を理解するうえで重要であると考えた。そこで、今回、プロモーター領域 CpG アイランドのシトシン塩基にメチル基を転移する	

酵素である DNA メチル化酵素 (*Dnmt1*)、メチル化 DNA に結合する メチル化 DNA 結合蛋白 (*MBD2*, *MeCP2*)、ヒストンから脱アセチル化を行うヒストン脱アセチル化酵素 (*HDAC1*) の胃癌における発現状況を検討することとした。

《対象と方法》

1997 年から 2004 年までに大阪医科大学一般・消化器外科にて手術が行われた初発原発胃癌 50 例を対象とした。凍結保存した切除標本から RNA を抽出し、cDNA を作製した。エピジェネティクス関連遺伝子である *MeCP2*、*MBD2*、*Dnmt1* および *HDAC1* の発現量を、作成した cDNA を template として各遺伝子配列に特異的なハイブリダイゼーションプローブを用いた Light Cycler による定量的 PCR 法にて検討した。なお、内部コントロールとして *G6PDH* を用い、腫瘍化による発現量変化を検討する目的で、同一切除標本の正常粘膜部と腫瘍部を比較検討した。

《結 果》

エピジェネティクス関連遺伝子の正常粘膜部および癌組織部における発現状況を検討したところ、*MeCP2*、*Dnmt 1* および *HDAC1* の発現は、癌組織部の発現は正常粘膜部に比較して有意に発現が増強していた。一方、*MBD2* の発現に関して、癌組織部の発現と正常粘膜部の発現状況に差はなかった ($P=0.4775$)。次いで各関連遺伝子の正常粘膜部に対する癌組織部の発現増強比を検討した。*MeCP2*、*MBD2*、*Dnmt1*、*HDAC1* の増強比の中央値はそれぞれ 1.695、1.028、1.525、1.482 であった。各関連遺伝子間の増強比に関する相関を検討したが、*MBD2* と *HDAC1* の間に正の相関関係 ($P=0.0001$) を認めた以外、他の遺伝子間に有意な相関は認めなかった。さらに、各関連遺伝子の増強比の中央値で高発現群と低発現群の 2 群に分類し、臨床病理学的因子との関連を検討した。

*MeCP2*に関して、*MeCP2*高発現群は、低発現群に比較して分化型 (P=0.00027)、静脈侵襲陽性 (P=0.0049)、肝転移 (P=0.0226)、腹膜播種性転移 (P=0.0490) が有意に多かった。その他の臨床病理学的因子との間に関連は認めなかった。*HDAC1*に関して、*HDAC1*高発現群は低発現群に比較して分化型 (P=0.00027)、静脈侵襲陽性 (P=0.0049) が有意に多かったが、その他の臨床病理学的因子との間に関連は認めなかった。一方、*MBD2* および *Dnmt1* の発現と検討した臨床病理学的因子との間に関連は認めなかった。

《考 察》

MeCP2、*Dnmt1* および *HDAC1* の遺伝子の発現は、正常粘膜部に比較して癌組織部に有意に高かった。これは、胃癌組織部においてこれら遺伝子が関与した遺伝子発現抑制機構が亢進していると考えられた。また、各遺伝子間の増強比に関する相関を検討したが、*MBD2* と *HDAC1* の間に正の相関関係を認めた以外、他の遺伝子間に有意な相関は認めなかった。このことから、検討した遺伝子間の発現調節は独立して行われていることが示唆された。一方、各関連遺伝子は正常粘膜部より癌組織部に発現が増強しているにもかかわらず、壁深達度やリンパ節転移状況など胃癌の進行度と深くかかわる臨床病理学的因子との間には有意な関連は認めなかった。今回の結果からエピジェネティクス関連遺伝子による DNA メチル化は、胃癌においても発育・伸展の初期段階ですでに発現が亢進していると考えられた。さらに、*MeCP2* や *HDAC1* の高発現症例は分化型、静脈侵襲陽性が有意に多かった。また、*MeCP2* の高発現症例は、肝転移症例も有意に多かった。一般的にも肝転移は、分化型胃癌、静脈侵襲陽性症例と深く関与している。このことから、*MeCP2* や *HDAC1* が関与する遺伝子抑制機構は、肝転移における遺伝子変化に深く関与しており、特に *MeCP2* 発現状態を検討することは肝転移発症予測の一助となりうる可能性が示唆された。エピジェネティクス関連遺伝子は癌の発育・進展に深く関与していることは明らかとなりつつあるが、臨床病理学的因子との関連

に関しては各種消化器癌において一定の見解が得られていない。これはエピジェネティクス関連遺伝子そのものが、直接、癌の発育・進展に関与するよりも、癌の発育・進展に関与する遺伝子の発現を調節することで間接的に関与していることが多いためと思われた。

《結 語》

胃癌においてエピジェネティクス関連遺伝子の発現増強は癌の発育・進展の初期段階に深く関与していると考えられた。さらに *MeCP2* の発現増強は血行性転移と関連していたことから、*MeCP2* 発現状態を検討することは肝転移発症予測の一助となりうる可能性が示唆された。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	乙第号	氏名	渡邊久
論文審査担当者		主査教授 樋口和秀	
		副査教授 瀧内比呂也	
		副査教授 芝山雄老	
		副査教授 大槻勝紀	
主論文題名			
<p>An Investigation of the Expression of Epigenetic-Related Genes in Gastric Cancer</p> <p>(胃癌におけるエピジェネティクス関連遺伝子の発現に関する検討)</p>			
論文審査結果の要旨			
<p>DNA 塩基配列の変化を伴わず、遺伝子機能を選択的に活性化または不活性化する高次の遺伝子情報制御機構であるエピジェネティクスの異常も癌に関与していることが報告されるようになってきた。しかし、この機構に関与するヒストン修飾や DNA メチル化の遺伝子と癌との相互作用について未だ知見に乏しく、その調節機構に関連する遺伝子発現の検討は、癌におけるエピジェネティックな異常を理解するうえで重要であると考えられる。本研究は、エピジェネティクス関連遺伝子である <i>MeCP2</i>、<i>MBD2</i>、<i>Dnmt1</i> および <i>HDAC1</i> の胃癌における発現状況を Light Cycler による定量的 PCR 法にて検討し、各遺伝子間の相関および臨床病理学的因子との関係を検討したものである。</p> <p>今回、<i>MeCP2</i>、<i>Dnmt1</i> および <i>HDAC1</i> の発現は、癌組織部では正常粘膜部に比較して有意に発現が増強していた。各関連遺伝子間の増強比に関する相関では、<i>MBD2</i> と <i>HDAC1</i> の間だけに正の相関関係を認め、検討した遺伝子間の発現調節は独立して行われていることが示唆される。臨床病理学的因子との関係においては、</p>			

MeCP2 高発現群は低発現群に比較して分化型、静脈侵襲陽性が有意に多く、また、肝転移や腹膜播種性転移も有意に多かった。各関連遺伝子は正常粘膜部より癌組織部に発現が増強しているにもかかわらず、壁深達度やリンパ節転移状況など胃癌の進行度と深くかかわる臨床病理学的因子との間には有意な関連は認めなかった。以上のことより、胃癌においてエピジェネティクス関連遺伝子の発現増強は癌の発育・進展の初期段階に深く関与していると考えられる。さらに *MeCP2* の発現増強は血行性転移と関連していたことから、*MeCP2* 発現状態を検討することは肝転移発症予測の一助となりうることが示唆される。

以上より、本論文は本学学位規程第 3 条第 2 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

（主論文公表誌）

Bulletin of the Osaka Medical College 57(1): 1-7, 2011